

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Dezember 2000 (21.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/77220 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/52, (71) Anmelder und
15/54, 15/62, 9/10, C12P 13/04, 21/02 (72) Erfinder: KELLER, Ulrich [DE/DE]; Selbitzerstr. 16 c,
D-14089 Berlin (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/01950 (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHAUWECKER,
(22) Internationales Anmeldedatum: 15. Juni 2000 (15.06.2000) Florian [DE/DE]; Herderstr. 35, D-12163 Berlin (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (74) Anwalt: NOBBE, Matthias; Viering, Jentschura & Part-
ner, Essener Strasse 5, D-46047 Oberhausen (DE).
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ,
(30) Angaben zur Priorität: 199 28 313.3 16. Juni 1999 (16.06.1999) DE DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,

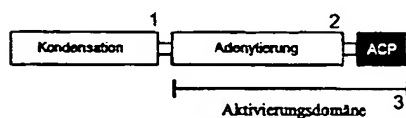
[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD OF MODIFYING PEPTIDE SYNTHETASES SUCH THAT THEY CAN N-METHYLATE THEIR SUB-
STRATE AMINO ACIDS

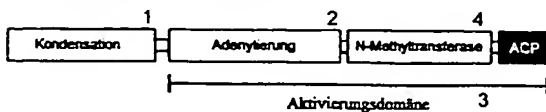
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR VERÄNDERUNG VON PEPTIDSYNTHETASEN IN DER WEISE, DASS SIE IHRE
SUBSTRATAMINOSÄUREN N-METHYLIEREN KÖNNEN

Abbildung 1: Modul einer PPS und Unterteilung in funktionelle Domänen
MODULE OF A PPS AND SUBDIVISION INTO FUNCTIONAL DOMAINS

A: Minimal-Modul einer PPS



B: Modul mit N-Methyltransferase-Domäne



A: MINIMAL MODULE OF A PPS

1...CONDENSATION

2...ADENYLATION

3...ACTIVATION DOMAIN

B: MODULE WITH N-METHYL TRANSFERASE DOMAIN

4...N-METHYL TRANSFERASE

(57) Abstract: The invention relates to a method of modifying peptide synthetases in such a manner that they can N-methylate their substrate amino acids. PPS are enzymes that synthesize peptides in a non-ribosomal manner. PPS have a modular set-up. Each module has an activation domain which recognizes and covalently binds to the respective substrate amino acid. The peptide synthesis catalyzed by PPS proceeds by the condensation of the covalently bound substrate amino acids. A minor number of the known activation domains is capable of also N-methylating the bound substrate amino acids. The inventive method allows conversion of the activation domains without N-methyl transferase activity to activation domains with N-methyl transferase activity while maintaining the original substrate specificity.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



WO 00/77220 A3



HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts:

29. März 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Veränderung von Peptidsynthetasen (PPS) in der Weise, daß sie ihre Substrataminosäuren N-methylieren können. PPS sind Enzyme, die Peptide auf nicht-ribosomale Weise synthetisieren. Die PPS sind modular aufgebaut. Jedes Modul besitzt eine Aktivierungsdomäne, welche die jeweilige Substrataminosäure erkennt und kovalent bindet. Die von der PPS katalysierte Peptidsynthese erfolgt dann durch die Kondensation der kovalent gebundenen Substrataminosäuren. Eine geringe Anzahl der bekannten Aktivierungsdomänen ist in der Lage, die gebundenen Substrataminosäuren auch zu N-methylieren. Die hier beschriebene Erfindung ermöglicht die Umwandlung von Aktivierungsdomänen ohne N-Methyltransferase-Aktivität in Aktivierungsdomänen mit N-Methyltransferase-Aktivität, wobei die ursprüngliche Substratspezifität erhalten bleibt.